

化风丹中 As_2S_2 及 As_2O_3 的含量测定

曹国琼^{1,2}, 张永萍^{1*}, 徐剑¹, 高莉³, 廖小刚³

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 北京师范大学, 北京 100875;
3. 遵义廖元和堂药业有限公司, 贵州 遵义 563000)

[摘要] 目的: 建立化风丹中不溶性砷盐和可溶性砷盐的含量测定方法, 为该制剂的质量控制提供参考。方法: 采用滴定法和紫外分光光度法分别测定 18 批化风丹中二硫化二砷和三氧化二砷的含量。结果: 建立的二硫化二砷含量测定方法重复性好, 平均加样回收率 97.61%, RSD 2.0%。三氧化二砷在 4~16 μg 与吸光度线性关系良好, 平均回收率 97.77%, RSD 2.1%。18 批化风丹中二硫化二砷质量分数 0.012~0.021 $3 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均质量分数 0.018 4 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 差异系数 13.3%; 三氧化二砷质量分数 75.24~124.55 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均质量分数 92.99 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 差异系数 15.3%。结论: 建立的含量测定方法简单、准确, 为化风丹质量标准提升提供实验依据。不同批次化风丹中二硫化二砷和三氧化二砷含量差异较大。

[关键词] 化风丹; 雄黄; 二硫化二砷; 三氧化二砷

[中图分类号] R283.6; R944.2; R927.2; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0054-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070054

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150211.1459.002.html>

[网络出版时间] 2015-02-11 14:59

Determination of As_2S_2 and As_2O_3 in Huafeng Dan CAO Guo-qiong^{1,2}, ZHANG Yong-ping^{1*}, XU Jian¹, GAO Li³, LIAO Xiao-gang³ (1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 2. Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 3. Zunyi Liaoyuanhetang Pharmaceutical Co. Ltd., Zunyi 563000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish determinations of soluble arsenic salt and insoluble arsenic salt in Huafeng Dan in order to provide a reference for quality control of this preparation. **Method:** Contents of As_2S_2 and As_2O_3 in 18 batches of Huafeng Dan were determined by titration and UV spectrophotometry, respectively. **Result:** This established determination of As_2S_2 was reproducible with average recovery of 97.61%. Linear range of As_2O_3 was 4-16 μg with average recovery of 98.42%. In 18 batches of samples, mass fraction of As_2S_2 was 0.012-0.021 $3 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ with average value of 0.018 4 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, difference coefficient was 13.3%; mass fraction of As_2O_3 was 75.24-124.55 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ with average value of 92.99 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, difference coefficient was 15.3%. **Conclusion:** These determinations are simple and accurate, they can provide experimental basis for improvement of quality standards of Huafeng Dan. Contents of As_2S_2 and As_2O_3 in different batches of samples are quite different.

[Key words] Huafeng Dan; Realgar; As_2S_2 ; As_2O_3

化风丹收载于《国家中成药标准汇编》, 由天麻、僵蚕、全蝎、天南星、荆芥、雄黄、麝香和冰片等 21 味中药组成, 具有息风镇痉、豁痰开窍的功效, 用于治疗风痰闭阻、中风偏瘫、癫痫、面神经麻痹、口眼

歪斜等^[1-2]。雄黄具有杀虫、燥湿、解毒、杀菌、止痒之功效^[3], 主要成分 As_2S_2 不溶于水及酸、碱, 此外还含有少量的可溶性成分—— As_2O_3 及 As_2O_5 ^[4], As_2O_3 既是毒性成分也是有效成分^[5]。目前关于含

[收稿日期] 20140811(013)

[基金项目] 国家科技部中小企业创新基金项目(10C26215205058); 国家火炬计划项目(2011GH021909); 贵州省重大科技专项[黔科合重大专项字(2011)6019]; 贵州省火炬计划项目[黔科合高字(2010)5002]

[第一作者] 曹国琼, 在读博士, 从事中药资源开发与利用研究, Tel: 18813158719, E-mail: cgqxch1986@126.com

[通讯作者] * 张永萍, 硕士, 教授, 从事中药新制剂与新剂型的研究, E-mail: zgygpg@126.com

雄黄类药材成方制剂中不溶性砷盐和可溶性砷盐含量测定的研究报道较多^[6-8],但对化风丹中雄黄成分的含量测定尚未见报道。本实验参考了2010年版《中国药典》和文献^[6-8],拟建立化风丹中不溶性砷盐 As_2S_2 和可溶性砷盐 As_2O_3 的含量测定方法,为该制剂的质量控制提供参考。

1 材料

Cintra20 型紫外-可见分光光度计(澳大利亚GBC公司),AE240型电子分析天平(瑞士梅特勒公司)。雄黄(北京同仁堂股份有限公司,批号121016), As_2O_3 对照品溶液(自制),水为蒸馏水,其余试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 二硫化二砷的含量测定^[9-10]

2.1.1 样品测定 取化风丹过六号筛粉末约2.0 g,精密称定,置锥形瓶中,加硫酸钾1.0 g,硫酸铵2.0 g和硫酸16 mL,用800 W直火加热至溶液澄清,放冷,缓缓加水50 mL,加热煮沸3~5 min,放冷,加酚酞指示液2滴,用40%氢氧化钠溶液中和至显微红色,放冷,用0.25 mol·L⁻¹硫酸溶液中和至褪色,加入碳酸氢钠5 g,摇匀,用0.05 mol·L⁻¹碘滴定液滴定至近终点时,加淀粉指示液2 mL,滴定至溶液显紫蓝色。每1 mL碘滴定液相当于二硫化二砷5.348 mg。

2.1.2 阴性样品测定 按处方量制备缺雄黄的阴性样品,精密称取阴性样品约2.0 g,共3份,置锥形瓶中,按2.1.1项下方法测定,消耗碘滴定液的体积分别为0.05,0.03,0.05 mL,说明除雄黄外剩余药材对 As_2S_2 的含量测定无干扰。

2.1.3 重复性试验 精密称取同一批化风丹样品约2.0 g,共6份,按2.1.1项下方法测定,计算 As_2S_2 平均质量分数12.127 mg·g⁻¹,RSD 0.6%,表明该方法重复性良好。

2.1.4 回收率试验 精密称取已知二硫化二砷含量的化风丹药粉约1.0 g,准确加入一定量雄黄粉(As_2S_2 质量分数98%),按2.1.1项下方法测定,结果见表1。

2.2 三氧化二砷的含量测定^[11-13]

2.2.1 As_2O_3 对照品溶液的制备 精密称取 As_2O_3 0.132 g,置于1 L量瓶中,加20%氢氧化钠溶液5 mL使溶解,加适量稀硫酸中和,加入稀硫酸10 mL,用水稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。临用前精密量取贮备液10 mL置1 L量瓶中,加入稀硫酸10 mL,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

表1 化风丹中 As_2S_2 含量测定的加样回收率试验

Table 1 Recovery test of determination of As_2S_2 in Huafeng Dan

称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.048 0	12.709	12.103	24.422	96.78		
1.018 1	12.346	12.309	24.598	99.54		
1.003 2	12.165	11.819	24.020	100.30	97.61	2.0
1.006 3	12.203	12.495	24.393	97.56		
1.007 6	12.219	12.064	23.736	95.47		
1.002 9	12.162	11.897	23.587	96.03		

2.2.2 供试品溶液的制备和测定 精密称取化风丹过四号筛粉末约0.1 g于锥形瓶中,加入稀盐酸20 mL,振摇提取1.5 h,滤过,滤液转移至50 mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。精密量取供试品溶液5 mL置砷化氢发生瓶中,加入盐酸5 mL与水21 mL,加碘化钾试液5 mL与酸性氯化亚锡试液5滴,室温放置10 min,加入无砷锌粒2 g,立即接上塞有乙酸铅棉花的导气管,并将导气管通入盛有二乙基二硫代氨基甲酸银(DDC-Ag)5 mL的吸收管中,35℃恒温反应1 h,取出吸收管,用三氯甲烷补至5 mL,将部分吸收液移入1 cm吸收池中,以DDC-Ag作空白,于510 nm处测定吸光度(A)。

2.2.3 线性关系考察 精密吸取1 mg·L⁻¹ As_2O_3 对照品溶液4,8,10,12,16 mL,分别置于砷化氢发生瓶中,按2.2.2项下自“加入盐酸5 mL…”起操作,以质量为横坐标,A为纵坐标,得回归方程 $Y = 0.0352X - 0.0079$ ($r = 0.9999$),线性范围4~16 μg。

2.2.4 精密度试验 精密吸取 As_2O_3 对照品溶液10 mL,共6份,置于砷化氢发生瓶中,按2.2.2项下自“加入盐酸5 mL…”起操作,计算A的RSD 1.7%,表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性试验 精密称取同一批化风丹样品约0.1 g,共6份,按2.2.2项下方法制备和测定供试品溶液,结果 As_2O_3 平均质量分数134.9 μg·g⁻¹,RSD 2.8%,表明该方法重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 精密称取同一批化风丹样品约0.1 g,按2.2.2项下方法制备和测定供试品溶液,于510 nm处每隔10 min测定1次A,结果表明在60 min内A稳定,RSD 1.0%。

2.2.7 加样回收率试验 精密称取已知 As_2O_3 含量的同批样品6份,每份约0.05 g,各精密加入 As_2O_3 对照品溶液7 mL,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,于510 nm处测定A,计算加样回收率,结

果见表 2。

表 2 化风丹中 As₂O₃ 含量测定的加样回收率试验

Table 2 Recovery test of determination of As₂O₃ in Huafeng Dan

称样量 /g	样品中量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.050 7	6.84	13.595	96.53	97.77	2.1
0.051 2	6.91	13.896	99.87		
0.052 2	7.04	13.698	95.11		
0.050 9	6.87	13.617	96.46		
0.053 5	7.22	14.225	100.13		
0.051 7	6.97	13.867	98.49		

注:加入量均为 7 μg。

2.3 样品测定 取不同厂家不同批次化风丹,分别按 2.1.1, 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,测定样品中 As₂O₃ 和 As₂S₂ 的含量,结果见表 3。

表 3 化风丹中 As₂O₃ 和 As₂S₂ 的含量测定

Table 3 Determination of As₂O₃ and As₂S₂ in Huafeng Dan

批号	As ₂ S ₂	As ₂ O ₃	批号	As ₂ S ₂	As ₂ O ₃
	/g·g ⁻¹	/μg·g ⁻¹		/g·g ⁻¹	/μg·g ⁻¹
W120301	0.019 3	76.84	W1203010	0.019 4	116.18
W120302	0.019 9	99.84	W090201	0.018 4	96.49
W120303	0.021 3	75.24	W090301	0.017 7	86.35
W120304	0.019 3	93.46	W090401	0.019 5	102.65
W120305	0.018 6	86.28	W090501	0.020 1	91.98
W120306	0.020 6	124.55	W110401	0.021 1	94.52
W120307	0.018 8	105.58	L20110201	0.014 1	76.55
W120308	0.019 6	87.32	L20120301	0.012 0	79.34
W120309	0.016 1	105.02	L20120401	0.016 1	75.63

3 讨论

雄黄中不溶性砷含量测定主要采用滴定法。中药中含有大量有机成分,若不能在样品前处理阶段除去,将会在滴定阶段产生严重干扰,导致实验误差较大。预试验对消解所涉及过程进行分析,确定最佳消解条件,包括消解时间、酸的用量等,使方法省时且准确可靠。可溶性砷盐测定方法主要包括古蔡氏法和 DDC-Ag 法等。古蔡氏法测定可溶性砷盐时受多种因素影响,且不能对可溶性砷盐进行准确定量。DDC-Ag 法较古蔡氏法能准确地反应药物中所含可溶性砷盐含量,且方法简单、准确、成本低。

化风丹中含有雄黄,雄黄主要成分为 As₂S₂,还含有少量 As₂O₃。本文建立了化风丹中不溶性砷盐及可溶性砷盐的含量测定方法,结果显示样品中 As₂O₃ 和 As₂S₂ 含量差异很大,As₂S₂ 在 0.012 ~ 0.021 3 g·g⁻¹,As₂O₃ 在 75.24 ~ 124.55 μg·g⁻¹。不同批次化风丹中 As₂S₂ 和 As₂O₃ 差异系数分别为

13.3% 和 15.3%,说明不同批次样品间砷盐的含量差异较大。

国内外大量研究表明,砷化合物的毒性在很大程度上依赖于其化学形态,不同砷化合物的毒性差异很大。文献报道大鼠、小鼠口服 As₂O₃ 的半数致死量(lethal dose, LD₅₀)分别为 20, 34.1 ~ 52.5 mg·kg⁻¹[3]。历来中医认为雄黄有毒,内服宜慎,不可久用,孕妇禁用,说明含雄黄中成药进行砷盐测定对制剂质量控制和临床安全用药具有重要意义。为减少安全性问题的发生,不能超剂量或长时间服用,注意在使用中避免与硫酸镁、硫酸铁等合并使用,以免将雄黄氧化为硫代砷酸盐,使其毒性增加。

[参考文献]

[1] 石尚友,冯华,邹孔强,等.化风丹中天麻素的提取方法研究[J].现代中药研究与实践,2011,25(2):50-51.

[2] 颜俊文,苗加伟,何海洋,等.万胜化风丹、雄黄和朱砂的急性肝肾毒性作用[J].中国药理学与毒理学杂志,2011,25(4):380-385.

[3] 梁爱华,李春英,王金华,等.雄黄的毒性研究[J].中国中药杂志,2011,36(14):1889-1894.

[4] 高双荣,梁爱华,易艳,等.雄黄中砷的不同形态及其毒性研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2011,24(17):243-247.

[5] 顾晶晶,黄珍贞,谷颖敏,等.雄黄可溶性砷和价态砷与小鼠急性毒性关系的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):230-233.

[6] 茅向军,许乾丽.不同厂家牛黄解毒片雄黄含量考察[J].中国中药杂志,2001,26(10):715-716.

[7] 窦忠花,陈志忠.牛黄消炎片中雄黄的含量测定及可溶性砷盐检查[J].中国药事,2002,16(11):712-712.

[8] 黄珍,万丽,赵力,等.分光光度法测定雄黄及牛黄解毒片中可溶性砷的含量[J].中国中药杂志,2003,14(4):195-196.

[9] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:附录 50.

[10] 格日勒.牛黄解毒丸(水丸)雄黄含量测定方法研究[J].石油化工应用,2009,28(7):74-75.

[11] 肖安菊,喻昕,尹美珍,等.2 种测定雄黄和牛黄解毒片中可溶性砷含量的方法比较[J].中国药房,2011,22(8):747-749.

[12] 吴瑞艳,曾令红.克痢痧胶囊中雄黄的含量测定及可溶性砷盐检查[J].黑龙江医药,2006,19(2):83-84.

[13] 徐智,俞珊珊,黄可龙.牛黄解毒片中不同单味组分对雄黄可溶性砷含量影响的比较研究[J].中国生化药物杂志,2009,30(2):121-123.

[责任编辑 刘德文]